

## ES8403520

Publication Title:

Continuous prepn. of proteolytic and amylolytic enzymes

Abstract:

Abstract of ES8403520

Process comprises submerged cultivation under sterile aerobic conditions, of a microorganism selected from *Aspergillus oryzae*, *A.niger*, etc. The resulting micelle and spores are collected, for filtration of the enzymatic liquid. - The liquid is concentrated under vacuum, and spray dried to give powder-form prod.. Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

-----  
Courtesy of <http://v3.espacenet.com>

REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL



ESPAÑA

ES  
11  
21  
22

NUMERO
519619
FECHA DE PRESENTACION
- 3 FEB. 1959

A1

8403520

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES:		
31 NUMERO	32 FECHA	33 PAIS
47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C12N 9/00	
54 TITULO DE LA INVENCION		
PROCEDIMIENTO CONTINUO PARA LA PRODUCCION DE ENZIMAS PROTEOLITICAS Y AMILOLITICAS A PARTIR DE MICROORGANISMOS VEGETALES.		
71 SOLICITANTE (S)		
D. MANUEL GANDARIASBEITIA AGUIRRECHE.		
DOMICILIO DEL SOLICITANTE		
Calle Rodriguez Arias, 55,4º, BILBAO.		
72 INVENTOR (ES)		
el mismo solicitante.		
73 TITULAR (ES)		
74 REPRESENTANTE		
D. JOSE MIGUEL GOMEZ-ACEBO Y POMBO.		

La presente invención se relaciona con un procedimiento continuo para la producción de enzimas a partir de microorganismos vegetales.

5 Mas concretamente, la invención se relaciona con la producción continua de enzimas hidrolásicas, tanto proteolíticas como amilolíticas, capaces de producir alfa-amilasa, beta-amilasa, alfa-amiloglucosidasa, celulasa, lipasa, proteasa y enzimas similares, cuyos enzimas son de amplia aplicación en industrias tan diversas como las de nutrición, textil, cuero, papel, fotografía, cárnica, harinas, confitería, panadera, etc.

10 Por tanto, y de acuerdo con esta invención, se ha descubierto que mediante el cultivo, bajo las condiciones que más adelante se detallarán, de cualquier cepa de microorganismos vegetales, pueden obtenerse enzimas de la clase mas arriba mencionada, y todo ello según un procedimiento realizado en torres de fermentación continua.

Hasta el presente, se desconoce, según el estado actual de la técnica, la producción de enzimas a partir de microorganismos por medio de torres de fermentación continua.

20 El procedimiento tradicional es de tipo discontinuo y de gran lentitud ya que los microorganismos requieren largos periodos de tiempo para que actuen en la forma deseada y ello debido fundamentalmente a que la operación de concentración del microorganismo, cualquiera que sea éste, necesita las fases de (a) cultivo de la cepa en caja Petri, (b) inoculación en un matraz de pequeño tamaño, (c) posterior inoculación en un matraz de mayor tamaño que el anterior y así sucesivamente, para conseguir una siembra adecuada para la producción industrial.

25 Por el contrario, el procedimiento de esta invención realizado en torres de fermentación continua permite, como es

30

evidente, el reciclaje y aditamento de las cepas y sustratos de alimentación de estas últimas de forma continua. Aunque el procedimiento de la invención puede resultar también de cierta lentitud en la iniciación de la primera torre, sin embargo una vez acumulada en dicha torre una cantidad de micelio equivalente, por ejemplo, a unos 300 - 500 gramos por litro de microorganismo, producido por una cepa pura, el flujo de salida de la torre tiene una cantidad tal de conidias y esporas con micelio que su ataque resulta instantáneo, pudiéndose regular el flujo de acuerdo fundamentalmente con el ritmo industrial deseado en función de la producción y ventas.

De forma resumida, el procedimiento de esta invención se basa en el cultivo de una cepa de microorganismo vegetal, elegida preferentemente, aunque no de forma limitativa, del grupo consistente en cepas de *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*, *Mucor racemosus*, *Bacillus subtilis* y combinaciones de las anteriores, bajo condiciones sumergidas y aeróbicas estériles, en presencia de fuentes asimilables de carbono, nitrógeno, oxígeno y sustancias minerales, utilizándose como sustrato de alimentación de dichas cepas un subproducto obtenido en la producción de harinas enzimáticas a partir de cereales de bajo contenido en enzimas.

Dicho sustrato de alimentación de los microorganismos aporta los elementos fundamentales para el desarrollo de las cepas, ya que su contenido en hidratos de carbono, celulosa, proteínas y sustancias minerales, es apreciable y suficiente para la finalidad perseguida. Por tanto, el empleo de dicho subproducto ofrece grandes ventajas económicas, si se tiene en cuenta que hasta el presente era desechado o carecía de aplicación alguna.

Las torres de fermentación continua en las cuales se lleva a cabo el procedimiento de la invención, se disponen bien en serie o bien paralelo, pudiendo variar su número en función de la producción deseada, pero con preferencia el número de torres será de 2 a 4. En cada torre, se dispone el nivel deseado de cepa, pudiendo tener todas las torres el mismo microorganismo o bien diferentes microorganismos en cada una de ellas.

De acuerdo con lo anterior, las torres, preferentemente verticales, se llenan al nivel deseado con las cepas de microorganismos y se introduce en las mismas el sustrato de alimentación, agua, oxígeno, proteínas, azúcares, almidones y sales minerales, para proceder al cultivo sumergido aeróbico de las cepas, bajo condiciones adecuadas de temperatura y pH. Dado que el sistema puede estar conectado en serie o en paralelo, es posible en todo momento proceder al reciclo y aditamento de sustrato y demás elementos de una torre a otra en la forma que dictaminen las necesidades de producción.

Preferentemente, la temperatura de cultivo varía entre 22 y 30°C aproximadamente y el tiempo de cultivo oscila entre 1 y 30 días. Como sales minerales, pueden usarse las ya utilizadas tradicionalmente en esta materia, tales como cloruros y fosfatos de sodio, calcio, hierro, zinc, así como mezclas de los mismos.

De cada torre de fermentación se puede recoger, en el momento que se estime oportuno, el micelio y las esporas, se procede a la filtración para recuperar el líquido enzimático y por último se concentra dicho líquido a la densidad deseada o bien se deseca por atomización en el caso de que se desee obtener polvo enzimático. La concentración del líquido enzimá-

tico puede realizarse en un concentrador de vacío.

Por último, y según otra característica de la invención, el líquido enzimático obtenido, rico en enzimas proteolíticas y amilolíticas, puede ser empleado para la pulverización de cereales de bajo poder enzimático, en la fase de germinación de los mismos, para incrementar el índice de maltosa de los mismos.

Descrita suficientemente la naturaleza de la invención, así como la manera de realizarse en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental.

### REIVINDICACIONES

1.- Procedimiento continuo para la producción de enzimas proteolíticas y amilolíticas a partir de microorganismos vegetales, caracterizado porque comprende las etapas de:

5 (a) cultivar, bajo condiciones sumergidas y aeróbicas esteriles, un microorganismo elegido del grupo consistente en *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*, *Mucor racemosus*, *Bacillus subtilis* y similares, así como combinaciones de los anteriores, en presencia, como sustrato de alimentación de los  
10 microorganismos, del subproducto obtenido en la producción de harinas enzimáticas a partir de cereales de bajo contenido en enzimas, cuyo subproducto aporta los hidratos de carbono, proteínas, sales minerales y demás elementos fundamentales para el cultivo, realizándose éste último a una temperatura comprendida entre 22 y 30°C y durante un tiempo comprendido entre  
15 1 y 30 días;

(2) recoger el micelio y esporas resultantes;

(3) filtrar el líquido enzimático del micelio;

(4) concentrar en vacío el líquido enzimático a la  
20 densidad deseada; y opcionalmente,

(5) desecar por atomización el líquido enzimático para obtener la forma de polvo.

2.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque el sustrato de alimentación de los microorganismos procede de la obtención industrial de maltosa de cereales de bajo poder enzimático.  
25

3.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 y 2, caracterizado porque el cultivo se efectúa de forma continua en un sistema de torres de fermentación en serie o en paralelo,  
30 para permitir el reciclado y aditamento de sustrato de una torre

a otra en la forma deseada.

4.- Procedimiento según la reivindicación 3, caracterizado porque el número de torres es con preferencia de 2 a 4, pudiendo encontrarse en cada torre el mismo microorganismo, o bien diferentes microorganismos en cada una de dichas torres.

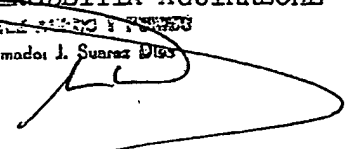
5.- Procedimiento según las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque el líquido enzimático resultante se puede reciclar a la fase de germinación de cereales de bajo poder enzimático para aumentar así el índice de maltosa de los mismos.

6.- Procedimiento continuo para la producción de enzimas proteolíticas y amilolíticas a partir de microorganismos vegetales, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente memoria.

Esta memoria consta de 6 hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, - 6 FEB. 1963

D. MANUEL GANDARIASBEITIA AGUIRRECHE

  
Firmado: J. Suarez Diaz